动 物 学 研 究 14 (增刊): 20—25
Zoological Research
ISSN 0254-5853
CN 53-1040 / Q

DNA 三链结构模型和能力学研究 *

刘次全 白春礼[①] 王三山[②] 王 莹
黄京飞 祝晓清[②] 荣茂森[③]

(中国科学院昆明动物研究所细胞和分子进化开放研究实验室 昆明 650223)

(云南大学现代生物学中心 昆明 650091)

摘要 本文按照用 STM 得到的一种变性 DNA 三链辫状结构图象，用分子建筑术分别构建了三链辫状结构和三链螺旋结构的分子模型。经过运用共轭梯度法优化后，作了能量分析，进而讨论了它们的稳定性和结构特征。

关键词: 三链结构，能力学分析，稳定性，分子建筑术，能量优化

DNA 结构多样性的研究已经引起人们广泛的兴趣。它不仅揭示了它的 A、B 和 Z 型等双螺旋的多种不同构象的存在，而且还发现了与传统的双螺旋截然不同的三链 DNA 结构。最近，人们还合成了具有三臂、五臂、六臂的非线型多支链的 DNA。即使是双链 DNA，也还有链状和环状等结构，也还可以形成松驰型、超螺旋型、花束型和浓缩型等不同拓扑形式的高级结构。

就三链 DNA 结构而言，从这一概念出现至今的 30 多年间，已有几十篇论文予以报道，但均集中在三链螺旋结构。1990 年 11 月白春礼等 (1991) 用扫描隧道显微镜观察到了变性条件下的 λ 噬菌体 DNA 的三链辫状结构。对于这种结构，迄今仍旧存在着不同的看法，但绝大多数是从生物学角度提出问题的。

本文从理论分析的角度，将三链辫状结构作为物理结构和化学结构。从构建分子模型开始，直至进行能量分析，进而讨论其稳定性和结构特征。

模 型 和 计 算

按照用扫描隧道显微术 (STM) 得到的一种 λ 噬菌体变性 DNA 辫状三链结构图象 (Bai 等，1993)，采集其中的一个周期结构单元 (其宽度为 3 nm，长约 6.7 nm)

---

* 中国科学院“八五”重大科研项目内容。

① 中国科学院化学研究所。 ② 中国科学院上海生物化学研究所。 ③ 云南省计算中心。

本文 1993 年 5 月 11 日收到。

(见模式图 1)，并参照 Arnott 等 (1974，1976) 报道的 TAT 三碱基体的结构参数，在 M-240D 计算机系统上，用分子建筑术分别构建了一段三链辫状结构模型和三链螺旋结构模型。

在构建三链辫状结构模型时，考虑到上下三碱基体的堆积距离。又分别构建了每链 19 个碱基长度和每链 22 个碱基长度的三链辫状结构模型，并得到了相应的初始坐标 (其中前者包括氢原子在内，共有 1830 个原子的笛卡尔坐标)。

本文仅以每链 19 个碱基长度的三链辫状结构为例予以讨论。其碱基顺序为:

A 链　TTTAAATTTTTTAAATTTT

B 链　AAATTTTTTAAATTTTTTA

C 链　TTTTTTAAATTTTTTAAAT

对于每一个周期结构单元，沿 Z 轴将上下堆积的三碱基体间的平均距离取作 0.37 nm，而对于包含 22 个三碱基体的周期结构单元，三碱基体间的平均距离则取作 0.32 nm。

三链辫状初始结构的理论模型建立之后，在 SGI 计算机系统的 4D／80 S 和 4D／20 G 上运用 BIOGRAF 对理论模型作了能量极小化处理和能量分析。能量优化用共轭梯度法，力场为 Dreiding Force Ficld，优化步数为 100 步。与此同时，为了与三链螺旋结构比较，我们还对每链包含 19 个碱基长度的三链螺旋结构作了同样的处理。此结构 3 条链的碱基顺序分别为:

A 链　TTTTTTTTTTTTTTTTTTT

B 链　AAAAAAAAAAAAAAAAAAA

C 链　TTTTTTTTTTTTTTTTTTT

其中，每条链的上下碱基间的平均距离取作 0.37 nm。三链辫状结构和三链螺旋结构模型见图 2。

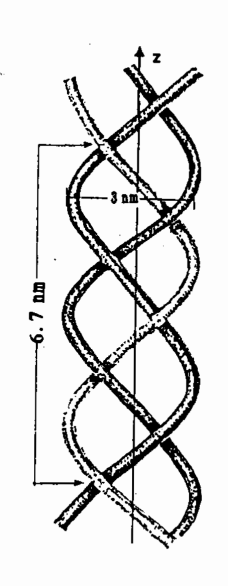


图 1　结构单元模式图

Fig. 1　Ideograph of constructional element

结　果　和　讨　论

1. 能量分析结果可从表 1 中看出，三链辫状结构的总能量 (经 100 步优化后为 20731.7441 kcal／mol) 明显高于三链螺旋结构的总能量 (经 100 步优化后为 5526.5986 kcal／mol)。前者的氢键能也远高于后者。值得注意的是，三链辫状结构模型在优化前其静电能为−1159.9380 kcal／mol，而在优化 100 步后却明显上升为正的 221.0993 kcal／mol。这些与两者的结构特征有着密切的关系。从能量分析结果推测的稳定性，三链辫状结构与三链螺旋结构相比较，前者较不稳定。

2. 无论是三链辫状结构或者是三链螺旋结构，其核苷酸链间主要是通过碱基间形

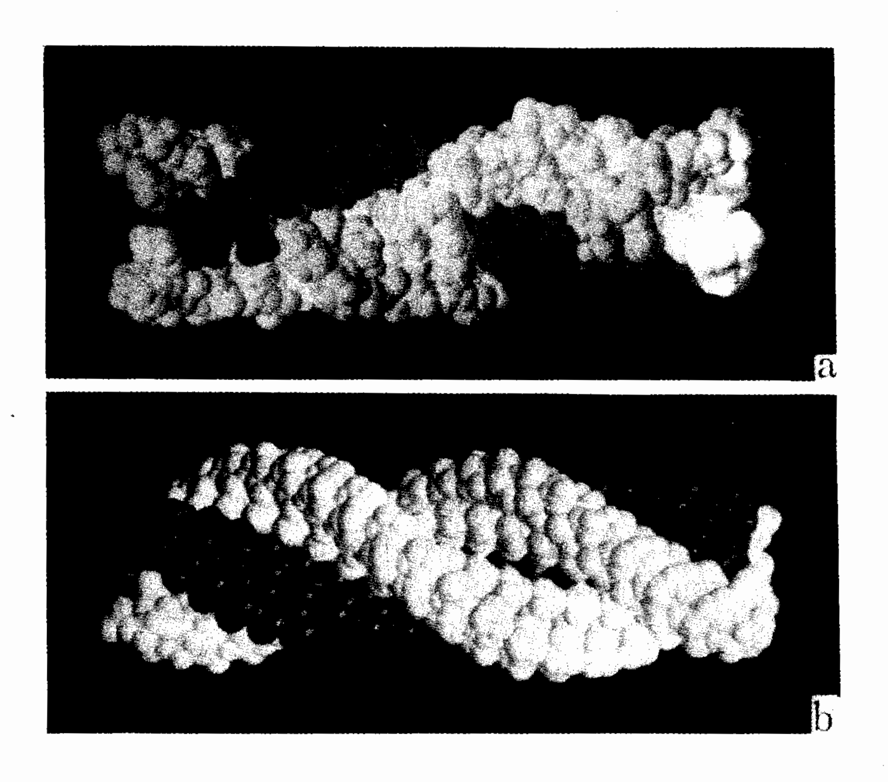


图 2 三链辫状结构 (a) 和三链螺旋结构 (b) 模型

Fig. 2 The three–stranded braid (a) and tri–helix structure (b) molecular models

成三碱基体而发生相互作用。这也可从经优化 100 步后，三链辫状结构和三链螺旋结构均有较明显的氢键相互作用予以说明。我们注意到两者的氢键能在所有能量项中均为负值，且只有氢键能才是负值 (表 1)。

在三链螺旋结构中，如果有两条嘧啶核苷酸链和 1 条嘌呤核苷酸链，且其中 1 条嘧啶链与嘌呤链以 Watson–Crick 配对时，另一条嘧啶链将以 Hoogsteen 氢键与嘌呤链配对。然而，在三链辫状结构中，三条核苷酸链是相互穿插编成“辫状”的，其中，每一条链的核苷酸在组成上一般不可能是同型的，它们有间隔重复的嘌呤核苷酸片段 (在本文中，每链 19 个核苷酸的三链辫状结构模型中为三个腺嘌呤核苷酸) 使之在辫状结构中作为“穿入”片段 (即提供三碱基体中位于中间位置的嘌呤碱基)。

3. 在三链辫状结构模型的 19 个三碱基体中，当沿 Z 轴方向自上而下逐个地观察时，每隔两个三碱基体 (这样的三碱基体其三个碱基几乎呈共平面三角形排列)，就有一个“三碱基体”的 T、A、T 三个碱基几乎呈非共平面的直线排列。这样的三碱基体共有 6 个。这是三条核苷酸链以相互穿插方式形成“辫状”结构的特征。从图 3 中可以看出这样的三碱基体的非共平面性及其氢键的特点，也说明了三链辫状结构的氢键相互作用

表 1　能量极小化结果（单位：kcal / mol）

Tab. 1　Result of energy minimization　(Unit: kcal / mol)

结构	步数	能量（优化前）		能量（优化后）	
三链	100 步	总能量	—	总能量	5526. 5986
螺旋		bond	122583. 4419	bond	440. 6739
结构		angl	14271. 0030	angl	3325. 5561
		tors	1290. 6574	tors	452. 2706
		Inve	12672. 1260	Inve	31. 7757
		vdw	—	vdw	1644. 8465
		ele	0. 0000	ele	0. 0000
		hbond	10176. 5985	hbond	−370. 5240
三链	100 步	总能量	—	总能量	20731. 7441
辫状		bond	1064657. 7236	bond	5599. 3947
结构		angl	32226. 2306	angl	7880. 4205
		tors	220. 2879	tors	963. 9686
		Inve	0. 0000	Inve	84. 9412
		vdw	—	vdw	6229. 1266
		ele	−1159. 9380	ele	221. 0993
		hbond	71. 5054	hbond	−247. 2168

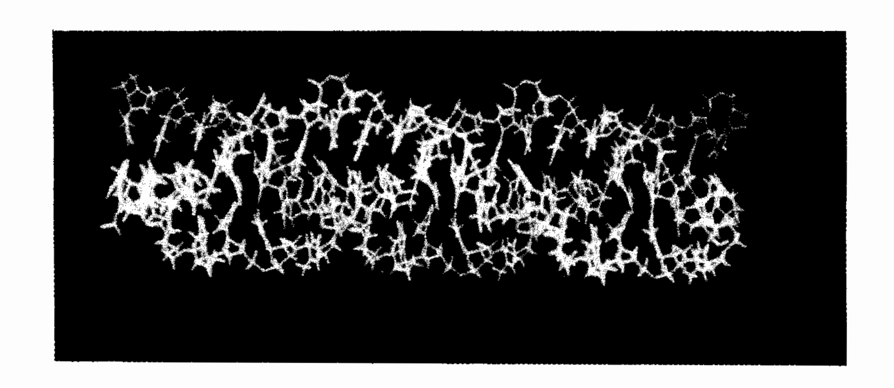


图 3　三链辫状结构的骨架模型

Fig. 3　Skeletal model of three-stranded braid structure

小于三链螺旋结构的氢键相互作用的原因。在一般情况下，失配的三碱基体及三碱基体中碱基的倾斜在三链辫状结构中更为明显。有时也可能出现其中一条链上的碱基，跟其它链的在顺序上位于下面的一个三碱基体的碱基形成氢键的情形。总之，这些因素在一定程度上虽然降低了三碱基体的碱基共平面性，但在整体上则可能有利于三链辫状结构的形成。

4. 从 Sanger 等 (1982) 实验测定的 λ 噬菌体 DNA 的核苷酸序列出发，通过“计算机试验”，找出了许多长短不一的、在理论上可以形成三链辫状结构的核苷酸片段，进而构建了三链辫状结构模型 (刘次全等，1993)。

综上所述，在理论上我们可以认为，三链辫状结构跟三链螺旋结构一样，以三碱基体为基础是可能形成的，但其稳定性低于三链螺旋结构。必须说明的是，本工作系探索性、理论性的工作，我们没有，也不可能就三链辫状结构是否存在于生物体中？存在几率如何？有何生物学功能等一系列问题作出任何推测。目前，我们能做的只是将三链辫状结构作为一种物理结构或化学结构作些实验观察和理论研究。虽然三链辫状 DNA 结构的一揽子问题尚须进一步的探索。但作为构建分子结构模型，本工作获得了重要的进展。

参 考 文 献

白春礼等. 1991. 科学通报，**36**: 345.

刘次全等. 1993. 动物学研究，**14**(增刊): 12.

刘次全等. 1993. 动物学研究，**14**(增刊): 26.

Arnott S *et al.* 1974. *J. Mol. Biol.*, **88**: 509.

Arnott S *et al.* 1976. *Nucleic Acids Res.*, **3**: 2459.

Bai C L *et al.* 1993. *Narobiology*, **2**: 55.

Sanger F *et al.* 1982. *J. Mol. Biol.*, **162**: 729.

The Research on the DNA Three-stranded Structural Model and Energetics*

Liu Ciquan Bai Chunli[1] Wang Sanshan[2] Wang Ying
Huang Jingfei Zhu Xiaoqing[2] Rong Maosen[3]

(Laboratory of Cellular and Molecular Evolution, Kunming Institute of Zoology, Academia Sinica, Kunming 650223)
(Modern Biological Center, University of Yunnan, Kunming 650091)

Based on the image of a denaturation DNA three-stranded braid structure obtained from STM, this paper presented respectively DNA three-stranded braid and tri-helix structure molecular models with molecular building. After doing the energy optimization using conjugated gradient method, we did the energy analysis, and then discussed the stability and structural features of DNA three-stranded braid and tri-helix structures.

Key words: Three–stranded structure, Energetics analysis, Stability, Molecular building, Energy optimization

* This project was supported by the Great Project of the Chinese Academy of Sciences.

① Institute of Chemistry, Academia Sinica.

② Shanghai Institute of Biochemistry, Academia Sinica.

③ The Computing Center of Yunnan Province.

体外 λ–DNA 形成新结构的证据*

Evidence of λ–DNA Forming New Structure in Vitro

关键词：λ–DNA，熔解温度，DNase I 酶解

Key words: λ–DNA, Melting temperature, DNase I enzymolysis

1990 年白春礼等人首次用扫描隧道显微镜（STM）直接观察到 λ–DNA／HindⅢ经热变性后在体外形成一种三链辫状结构。这一结果不同于目前提出的三螺旋模型，即第 3 条链缠绕于双链 DNA 的大沟之中。据文献报道，用同型嘌呤和同型嘧啶或以单链 DNA 和双链 DNA 反应所得到的三链物比双链 DNA 有较低的熔解温度（Tm），在解旋过程中 280 nm 光吸收值明显提高，对 DNase I 酶解有抗性等特征。

材料和方法 我们采用四重蒸馏水作为溶剂，按白春礼等（1990）的方法在体外观察 λ–DNA 新结构的生成。λ–DNA Hind Ⅲ为华美生物工程公司生产。最大吸收为 257.8 nm，260／235，260／280 的 OD 比值分别为 1.89 和 1.85，蛋白质含量小于 1%。将上述 DNA（0.5 μg／μl）在沸水中加热 15 min 后，迅速地插入冰水中。测定前用四重蒸馏水（pH5）稀释，最终浓度为 20 μg／ml，置于密封比色杯内在 Hitachi U–3200 紫外分光光度计测定。所示温度指样品池内经校正后的温度值。

结果和分析 经上述制备的样品具有如下特征：

1. 如图所示，温度吸收曲线呈现两个明显的解旋过程，分别为 $Tm_1 = 39.5 \pm 0.5$℃（A 组分）和 $Tm_2 = 73.5 \pm 0.5$℃（B 组分）；而样品经稀释（20 μg／ml）后按白春礼等（1990）方法同样处理后没有明显观察到上述现象。

B 组分的形成以 pH5.0 为最佳，pH7.0 时没有观察到；在同样条件下，未经热变性处理的样品在 pH7.0、6.0、5.0 和 4.0 没有观察到上述现象，Tm 值（43 ± 0.5℃）无明显变化。在加热的过程中还观察到随温度升高，260／280 的 0.D 比值下降。相应于 B 组分的 $\triangle A_{280}／\triangle A_{260}$ 的比值显著大于双链 DNA。

（下转第 31 页）

* 中国科学院“八五”重大科研项目内容。

本文 1993 年 3 月 14 日收到。